

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

AN 1986-031819 [05] WPIDS
DNC C1986-013298
TI Halo-hydroxybutyric acid ester prodn. - by treating gamma-halo-aceto-
butyric acid ester with yeast strain.
DC B05 D16
PA (NISY) NIPPON SYNTHETIC CHEM IND CO
CYC 1
PI JP 60251890 A 19851212 (198605)* 3p <--
ADT JP 60251890 A JP 1984-110097 19840530
PRAI JP 1984-110097 19840530
AN 1986-031819 [05] WPIDS
AB JP 60251890 A UPAB: 19930922
Process comprises treating gamma-haloacetobutyric acid ester with at least
1 yeast strain selected from Trichosporon, Rhodotorula, Debaryomyces,
Cryptococcus, Torulopsis and Candida.
Pref. starting ester is cpd. of formula X-CH₂COCH₂COOR, prep'd. by
reacting halogen with diketone inorganic solvent.
USE/ADVANTAGE - Gamma-halo-beta-hydroxybutyric acid is prep'd. in
yield at least 75%. Useful as intermediate for pharmaceuticals such as
cartinine, BABOB, etc..
0/0

① 日本国特許庁 (JP) ② 特許出願公開
 ① 公開特許公報 (A) 昭60-251890

| ④Int.Cl.* | 識別記号 | 厅内整理番号 | ③公開 昭和60年(1985)12月12日 |
|----------------|------|---------|-----------------------|
| C 12 P 7/62 | | 8213-4B | |
| II(C 12 P 7/62 | | 8213-4B | |
| C 12 R 1:645) | | 6760-4B | |
| (C 12 P 7/62 | | 8213-4B | |
| C 12 R 1:885) | | 6760-4B | |
| (C 12 P 7/62 | | 8213-4B | |
| C 12 R 1:72) | | 6760-4B | 審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁) |

⑤発明の名称 ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法

⑥特 願 昭59-110097
 ⑦出 願 昭59(1984)5月30日

⑧発明者 長谷川 昌康 京都市伏見区深草坊町35
 ⑨発明者 郡木 和昭 西宮市東鳴尾町1-2-17
 ⑩出願人 日本合成化学工業株式 大阪市北区野崎町9番6号
 会社

四月 紙面 3

1. 発明の名称

ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法

2. 特許請求の範囲

ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルにトリコスボロン属、ロドトルラ属、デバリオマイセス属、クリプトコッカス属、トルロブシス属、カンジグ属から選ばれる微生物の少なくとも一種を作用せしめることを特徴とするヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルの製造法。

3. 発明の詳細な説明

【産業上の利用分野】

本発明はヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルを微生物的に処理して、ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルを製造する方法に関する。

【従来の技術】 【発明が解決しようとする問題】

ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルを化学的に還元してヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルを製造する場合、重ハロゲンが起こりやすく目的物の収率が低い欠点がある。

これに対して、微生物的にヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルを還元する方法は既ハロゲン等の副反応の恐れはないものの、既未この反応に用いられるパン酵母やサモアンエアロビクム・プロッキー等の微生物では、目的物の収率がこれ又低く工業的規模の実施には実用的でない。

【課題点を解決するための手段】

しかしに本発明者等はかかる欠点のない方法について検査研究を重ねた結果、ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルにトリコスボロン属、ロドトルラ属、デバリオマイセス属、クリプトコッカス属、トルロブシス属、カンジグ属から選ばれる微生物の少なくとも一種を作用せしめる場合、高取率でヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルが得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

本発明で用いる出発原料のヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エステルとは、有機溶媒中でハロゲンとジケテンを反応させて得られる一般式 [$X-CH_2CO-C(=O)COOR$] で示される化合物である。

X はハロゲンであるがクロル、ブロムが実用的である。 R はアルキル基、フェニル基、アリール基等任意の有機基であって良い。ヤーハロー-β-ヒドロキシ脂肪酸エス

タル、アーティロルアセト酢酸エチルエスチルが有用である。

本発明で用いる微生物として有効なものを例示すれば次の通りである。

トリコスボロン・クタニウム(IFO 1198)、ロドトルラ・テキセンシス(IFO 0920)、ロドトルラ・ルブラ(IFO 1101)、デバリオマイセス・ハンセニー(IFO 0023)、デバリオマイセス・サブゲロボサス(IFO 0794)、クリプトコッカス・ラウレンティー(IFO 0609)、クリプトコッカス・キオフィーマンス(IFO 0410)、トルロブシス・カンジダ(IFO 0405)、トルロブシス・エリシア(IFO 0881)、カンジダ・ユティリス(IFO 0396)、カンジダ・リポリティカ(IFO 0717)。

本発明で用いる微生物は常法に従って培養することができる。アーハロアセト酢酸エスチルとの反応は水系(水、生理食塩水、バッファー液、培地等)に微生物を分散させ、エキス液として酵素等を添加し、次いで該エスチルを加えて10~70μL(多くは20~50μL)で0.1~100時間程度振とうあるいは攪拌すれば良い。又、微生物を別途固定化して作用せしめ

る等の任意の方法が採用される。反応形式としてはパッカ方式あるいは固定化された微生物を管や塔に充填しアーハロアセト酢酸エスチルを流下させる連続方式等任意の手段が採用出来る。

かかる反応時の液体は水のみならず水と相溶性のある有機溶媒例えばアルコール、アセトン等の水/有機溶媒混合系が用いられる。微生物に対して害とならない有機溶媒を選択することは勿論必要である。

系に対しアーハロアセト酢酸エスチルはそのままあるいは有機溶媒に溶解あるいは分散させて添加される。該エスチルの系中濃度は通常0.01~5.0重量%好ましくは0.05~1.0重量%が適当である。

反応時にグルコース等の糖類や微生物基質を共存させても差し支えない。かかる糖類や微生物基質の添加は反応の任意の段階で可能であり、一括、逐段、分削のいずれの手段も実施出来る。又反応時間は0.1~100時間程度が実用的である。

反応終了後は微生物を遠心分離等の常法に従って分離し、滤液をエーテル、四塩化炭素、ベンゼン等の有機溶媒を用いて抽出する。

抽出液から溶媒を除去することによってアーハロ-β-ヒドロキシ酢酸エスチルが得られる。

[作用]

本発明においてはアーハロ-β-ヒドロキシ酢酸エスチルが75%以上の高収率で得られるので、該方法は工業的に極めて意義が高い上、該エスチルはカルニチン、GABAのB等の医薬品の中間体として有用なものである。

次に実例を挙げて本発明の方法を更に詳しく説明する。

実例1

解剖エキス3g、豆芽エキス3g、ペプトン5g、ブドウ糖10gからなる培地(pH 6)5ccを試験管に取り、トリコスボロン・クタニウム(IFO 1198)を1%白金耳接種して30℃で24時間振とう培養を行ない種培養液を得た。

次に上記と同一組成の培地100ccを500cc容瓶ロフラスコに取り、種培養液5ccを添加して30℃で24時間振とう培養を行なった。

この系にアーティロルアセト酢酸エチルエスチルの10.0%エタノール溶液8ccを添加し(アーティロルアセト酢酸エチルエスチル換算で0.8g)30℃で8時間、振とう培養を経て反応を行なった。(4時間目にグルコース5gを追加した。)

得られた反応液を遠心分離したのち、滤液にエーテル50ccを加えて抽出を行なった。抽出液を二層分離しエーテル層に無水硫酸マグネシウムを添加、脱水した後蒸留に付した。反応生成物はガスクロ、IR、NMRで確認したところアーティロル-β-ヒドロキシ酢酸エチルエスチルであることが判明した。

収率は9.0%又該エスチルは[α]_D²⁵-11.7(クロロホルム溶媒、濃度5.7%)なる値を示した。

実例2~12

次表に示す如き微生物を用いて実例1に準じて実験を行ない対応するアーハロ-β-ヒドロキシ酢酸エスチルを得た。その結果を表に示す。

| 支別 | 使用微生物 | 原料 | 選元物 の割率 |
|----|---------------------------------|-----------------|------------|
| 2 | トリコスパロン・クニカム (IFO 1198) | 7-クロルアセト酢酸オキナカル | 92% |
| 3 | ロドトバク・タキセンレス (IFO 0920) | 7-ブロムアセト酢酸ノカル | 88% |
| 4 | ロドトバク・ルアク (IFO 1101) | 7-クロルアセト酢酸ベンジル | 85% |
| 5 | デバイオマイセス・ハンセニー (IFO 0023) | 7-ブロムアセト酢酸ブチル | 83% |
| 6 | デバイオマイセス・サブグロボサス (IFO 0794) | 7-クロルアセト酢酸プロピル | 75% |
| 7 | カリブトコッカス・ラクレンティー (IFO 0609) | 7-クロルアセト酢酸ノニル | 85% |
| 8 | カリブトコッカス・キオファーマンス (IFO 0410) | 7-クロルアセト酢酸アリル | 75% |
| 9 | トルロブレス・カンジダ (IFO 0405) | 7-クロルアセト酢酸ビニル | 78% |
| 10 | トルロブレス・アエリア (IFO 0881) | 7-クロルアセト酢酸フェニル | 77% |
| 11 | カンジダ・ユティリス (IFO 0396) | 7-クロルアセト酢酸ノカル | 79% |
| 12 | カンジダ・リベリカ (IFO 0717) | 7-クロルアセト酢酸ドデシル | 75% |